



LA PESADA CARGA DE LAS ABEJAS

ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN EL
POLEN DE PANAL Y EN EL POLEN CAPTURADO A
ABEJAS MELÍFERAS EN DOCE PAÍSES EUROPEOS

Abril 2014

Laboratorios de investigación de Greenpeace
Informe técnico 03-2014

GREENPEACE

GREENPEACE

Resumen ejecutivo

Este estudio informa sobre las concentraciones de plaguicidas encontradas en el polen llevado a las colmenas por las abejas pecoreadoras, en muestras obtenidas mediante trampas para polen (polen capturado) o directamente tomadas de los panales (polen de panal, pan de abeja). Se han obtenido 25 muestras de polen de panal almacenado durante el invierno tras la temporada de pecoreo de 2012, procedentes de siete países europeos, a las que se han añadido posteriormente 107 muestras de polen capturado durante la temporada de pecoreo de 2013, procedentes de 12 países europeos, siendo el conjunto analizado en un laboratorio acreditado. En términos de las áreas geográficas cubiertas y de la cantidad de muestras tomadas simultáneamente, este es uno de los estudios más amplios llevados a cabo hasta la fecha sobre los plaguicidas presentes en el polen recolectado por las abejas.

En las muestras de polen capturado se han identificado residuos de al menos uno de 53 plaguicidas (incluyendo 22 insecticidas/acaricidas, 29 fungicidas y dos herbicidas). En las muestras de polen de panal (pan de abeja) se han identificado residuos de al menos uno de 17 plaguicidas (incluyendo 9 insecticidas/acaricidas y 8 fungicidas).

Los resultados señalan el amplio uso de los insecticidas clorpirifos (presente en 18 muestras) y tiacloprid (en 14 muestras), así como del fungicida boscalida (en 14 muestras), que constituyen los residuos más detectados en las muestras de polen capturado. Los resultados señalan igualmente la presencia en este polen de una gran variedad de productos fitosanitarios, especialmente de fungicidas; en una muestra procedente de Italia, se ha llegado a detectar un máximo de 17 residuos diferentes (3 insecticidas/acaricidas y 14 fungicidas). En conjunto, los presentes resultados coinciden ampliamente con otros estudios de polen capturado y de productos derivados de las abejas, que por lo general también han detectado la presencia de una gran variedad de plaguicidas. Este estudio arroja una nueva luz sobre la exposición tóxica potencialmente grave que sufren las abejas melíferas, tanto a nivel individual como en sus colonias, a lo largo de su ciclo vital, y plantea preguntas importantes sobre la también posible exposición de las poblaciones de abejas silvestres, así como de otros polinizadores silvestres, a agentes químicos por diferentes vías. Tanto en los debates pasados como en los actuales sobre la salud de las abejas y las medidas de protección de los polinizadores, dichos niveles de exposición han sido siempre ignorados o subestimados.

Resulta importante analizar la exposición de las abejas y de sus larvas a mezclas de plaguicidas, porque investigaciones recientes han establecido que algunos de los componentes de dichas mezclas son capaces de interactuar de forma sinérgica, de manera que su combinación ha demostrado ser más tóxica que como componentes aislados. Las mezclas identificadas como potencialmente peligrosas incluyen aquellas que contienen tratamientos acaricidas aplicados dentro de las colmenas junto con fungicidas que actúan a través de inhibidores de la biosíntesis de esteroides (SBI, por sus siglas en inglés). Este tipo de fungicidas tiene amplia presencia en las muestras aquí analizadas, sugiriendo así la

posibilidad de que las mezclas detectadas puedan resultar toxicológicamente activas para las abejas expuestas a ellas.

Hasta la fecha, los progresos para la eliminación de la exposición de las abejas a los plaguicidas a través de su actividad de pecoreo han sido muy limitados. Se han establecido prohibiciones parciales de uso de los insecticidas sistémicos imidacloprid, tiametoxam, clotianidina y fipronil en los tratamientos de las semillas, del suelo o foliares de ciertos cultivos específicos. Pero para proteger mejor a los polinizadores silvestres y manejados, sería necesario convertir esta prohibición en permanente y ampliar su alcance para incluir otros usos y otros plaguicidas. Es necesario asegurarse, mediante investigaciones y la aplicación de evaluaciones holísticas, que se elimine el uso de plaguicidas con propiedades dañinas para las abejas. También es importante garantizar que los productos existentes no sean simplemente sustituidos por otros plaguicidas que aún no hayan sido totalmente evaluados. El tiacloprid, por ejemplo, ha sido encontrado con bastante frecuencia en el polen capturado durante el presente estudio, sugiriendo su amplio uso en Europa en 2013, posiblemente para sustituir a los neonicotinoides restringidos. Por otro lado, otros insecticidas que se sabe que resultan muy dañinos para las abejas, también deberían ser sometidos a los controles más estrictos posibles. Entre ellos habría que incluir al clorpirifos (encontrado con frecuencia en el presente estudio), junto con los piretroides sintéticos cipermetrin y deltametrin.

Los resultados de esta investigación, sumados a los de otros trabajos presentes en la literatura científica, señalan que las actuales regulaciones aplicadas a los plaguicidas, basadas en un número limitado de factores medioambientales y de valores de toxicidad de sustancias activas consideradas de manera aislada, tal vez no protejan adecuadamente a las poblaciones de polinizadores. Es necesario que el control y seguimiento de los plaguicidas a los que se ven expuestos los polinizadores abarque el espectro más amplio posible de sustancias (y de sus metabolitos) investigables acudiendo a los métodos analíticos más innovadores, hasta los límites de detección accesibles.

Por otro lado, hay que tener más en cuenta la exposición de los polinizadores a mezclas de plaguicidas, especialmente en lo referente a la posibilidad de interacciones sinérgicas, que resultan difíciles de predecir cuantitativamente acudiendo a la mayoría de los modelos actualmente disponibles de toxicidad combinada. De acuerdo con esto, también habría que desarrollar estrategias con los objetivos y resultados de lograr una reducción sustancial del uso de plaguicidas de todo tipo, como un objetivo cautelar en sí mismo.

Para asegurar altos niveles de protección de las poblaciones de polinizadores, es necesario establecer "planes de acción para salvar a las abejas" coordinados. Además de promover una regulación y control más eficaces de los productos agroquímicos, dichos planes deberían incluir un seguimiento de la salud de las abejas y de otros polinizadores. También deberían mejorar la conservación de los hábitats naturales o seminaturales alrededor de las explotaciones agrícolas, así como potenciar la biodiversidad dentro de los propios campos de cultivo.

Finalmente, también es necesario incrementar de manera drástica la financiación de la investigación y desarrollo de prácticas de agricultura ecológica, que permitan pasar de los hábitos de control químico de las plagas al uso de herramientas basadas en la biodiversidad

para gestionar dichas plagas y mejorar la salud de los ecosistemas. Los responsables de la UE en este ámbito deberían destinar mayores fondos a la investigación de alternativas de agricultura ecológica, bajo los auspicios de programas como la PAC (ayudas directas) y Horizonte 2020 (investigación en la UE).

En suma, este estudio señala por lo tanto la necesidad de reducir progresivamente, hasta su eliminación, la exposición de las abejas al cóctel tóxico de agroquímicos al que se ven expuestas a lo largo de su ciclo vital y de progresar hacia métodos de agricultura ecológica.

Introducción

La agricultura moderna depende de diversos insumos químicos sintéticos que van desde fertilizantes inorgánicos hasta plaguicidas tóxicos diseñados para atacar a las plagas de insectos y hongos, así como para controlar las plantas adventicias. Las dimensiones de esta intervención química en un solo cultivo y temporada quedan bien ejemplificadas en los datos sobre cultivos en el Reino Unido, publicados en línea (Goulson, 2014), y que invitan a la reflexión. Comenzando con los tratamientos de las semillas con insecticidas y fungicidas, un solo cultivo de colza de invierno recibió hasta 20 tratamientos con biocidas diferentes, además de la aplicación de fertilizantes inorgánicos en varios momentos de su desarrollo. En el caso de un cultivo de trigo de invierno, se aplicaron hasta 18 biocidas diversos, junto a fertilizantes inorgánicos, a lo largo de toda la temporada. Si bien algunos de estos tratamientos químicos se realizan cuando las abejas no están pecoreando, otros en cambio pueden exponerlas directamente a las mezclas de plaguicidas.

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) (2014) señala que, en todo el ámbito europeo, existen importantes lagunas de conocimiento sobre los múltiples agentes estresantes que afectan tanto a los polinizadores silvestres como a los manejados, incluyendo los efectos de las mezclas de plaguicidas. Este informe señala, entre otras cosas, la necesidad de desarrollar, mediante investigaciones coordinadas, métodos comunes de seguimiento de las abejas y de identificación de las amenazas que suponen para ellas las diferentes clases de productos agroquímicos. El impacto de éstos sobre las poblaciones de abejas (así como sobre otros insectos polinizadores) cada vez suscita mayor atención.

Greenpeace ha publicado recientemente una revisión de los factores que se considera que están contribuyendo al acentuado declive de las abejas melíferas y de las poblaciones de polinizadores silvestres (Tirado *et al.*, 2013). Como dicho informe ("*El declive de las abejas*") aclara, el declive observado a escala global de las poblaciones de abejas y de su estado de salud no puede atribuirse a un único factor. Gran parte de las investigaciones realizadas hasta la fecha se han centrado en las abejas melíferas (*Apis mellifera*) y los factores más importantes hasta ahora identificados son los relativos a enfermedades parasitarias, bacterianas y virales, así como a las prácticas agrícolas generalizadas que pueden afectar a su ciclo vital en numerosos momentos. En suma, este declive es indudablemente producto de múltiples factores, tanto conocidos como desconocidos, que actúan aisladamente o en combinación.

El ácaro parasitario *Varroa destructor* supone en todas partes una importante amenaza para las abejas, mientras que el parásito microsporidio *Nosema ceranae* tiene especial impacto en ciertas regiones como en el sur de Europa. Existen evidencias de que la exposición a algunos plaguicidas puede comprometer el sistema inmunitario de las abejas. Por otro lado, la destrucción o dispersión de los hábitats naturales y seminaturales, con la expansión paralela de los monocultivos y la reducción de la diversidad vegetal silvestre, también pueden desempeñar un importante papel en dificultar la capacidad de supervivencia de las poblaciones de polinizadores. Se sumarían a todos estos factores los erráticos patrones climatológicos derivados del cambio climático como un nuevo elemento cada vez más

importante, si bien de momento sus efectos aún son difíciles de caracterizar, predecir o atribuir.

Ante todos estos diversos factores impulsores del declive de los polinizadores, el informe “El declive de las abejas” concluye que un primer paso crucial consistiría en la prohibición del uso de varios plaguicidas cuya alta toxicidad para las abejas es bien conocida. La lista incluye el imidacloprid, tiametoxam, clotianidina, fipronil, clorpirifos, cipermetrin y deltametrin. En abril de 2013, la mayoría de los países de la UE apoyaron la propuesta de la Comisión Europea (Comisión Europea 2013a) de restringir temporalmente el uso de tres de estos plaguicidas en algunas prácticas: el imidacloprid, el tiametoxam y la clotianidina. En Italia, Francia, Alemania y Eslovenia existían ya algunas prohibiciones parciales del uso de estos neonicotinoides. En Italia, no se han registrado efectos negativos significativos en la producción agrícola nacional como resultado de esta prohibición, pero sí se han registrado en cambio algunos efectos positivos en el estado de salud de las abejas (Parlamento Europeo, 2012). A estas restricciones le siguió una investigación del fipronil (EFSA, 2013) que identificó la grave amenaza que supone para las abejas el polvo generado por el uso de semillas tratadas con este plaguicida, así como las importantes lagunas de datos relacionados con las vías de exposición a través del polen, del néctar y del agua de gutación. Esto ha conducido, a su vez, a la elaboración del Reglamento de Aplicación (UE) 781/2013 de la Comisión Europea, que prohíbe el uso de fipronil para el tratamiento de semillas (Comisión Europea, 2013b), efectivo desde el 31 de diciembre de 2013.

Todos los insecticidas restringidos en Europa en el tratamiento de semillas son plaguicidas sistémicos o parcialmente sistémicos, que penetran en las plantas y se distribuyen por todas sus partes. Puesto que esto puede incluir su polen y néctar (véanse, p. ej., Dively & Kamel, 2012; Pohoreck *et al.*, 2012), suponen un riesgo directo para las abejas, que recolectan ambos materiales y lo transportan a la colmena. Pero, sin embargo, este problema no se limita a los plaguicidas sistémicos; una investigación llevada a cabo en Francia hace ya tiempo registró la presencia de residuos de 19 plaguicidas en el polen recolectado por las abejas en varios lugares (Chauzat *et al.*, 2006), mientras Lambert *et al.* (2013) registraron hasta 23 plaguicidas presentes en muestras de polen tomadas en el oeste de Francia. Skerl (2009) ha aportado datos sobre el pan de abeja y el polen recolectado en manzanos tratados en Eslovenia, señalando que los insecticidas y fungicidas utilizados son hallados en el polen presente en las colmenas sólo unos días después de su aplicación. Una investigación desarrollada en varios lugares de Estados Unidos a la vez analizó el polen recolectado por las abejas, tomándolo del pan de abeja y mediante trampas para polen; se registraron en total casi 100 plaguicidas diferentes y sus metabolitos, procedentes de 350 muestras, hallando incluso contaminación en la propia cera (Mullin *et al.*, 2010).

Un estudio más reciente (Stoner & Eitzer, 2013) ha detectado 60 plaguicidas específicos y sus metabolitos derivados de varias clases de sustancias químicas en el polen recolectado por las abejas a lo largo de un periodo de dos a cinco años, en diversos lugares de Connecticut (Estados Unidos). Se ha realizado una investigación similar con muestras compuestas de polen recolectado por abejas en áreas clave de cultivos frutales en los Estados Unidos; aunque los investigadores señalan que en algunas de estas áreas el polen procede predominantemente de árboles silvestres, más que de los propios frutales cultivados. A pesar de esto, se han detectado importantes dosis de 35 plaguicidas

específicos en dicho polen, incluyendo especialmente fungicidas (Pettis *et al.*, 2013). En un estudio exploratorio realizado en 14 colonias de abejas melíferas en el sur de Suecia, se han detectado 26 plaguicidas específicos en el polen de panal, con más de 13 de ellos detectados en muestras individuales (Jonsson & Krueger, 2013). Las mayores concentraciones registradas corresponden a dos fungicidas: azoxistrobin y procloraz.

Un proyecto alemán de investigación a escala nacional también ha analizado muestras de pan de abeja recogidas en 2005-2006 y ha aislado un total de 42 sustancias activas en 105 muestras, en algunas de las cuales había más de un plaguicida presente, si bien 25 de ellas no contenían nada por encima de los límites detectables. Otras muestras recogidas en 2007 han arrojado unos resultados muy similares, con 42 sustancias activas detectables en 110 muestras, aunque los plaguicidas encontrados presentan algunas diferencias (Genersch *et al.*, 2010).

Algunos de estos estudios mencionados también han analizado la miel y la cera de las abejas e incluso a las abejas en sí, hallando una variedad similar de plaguicidas presentes. Algo ratificado por un análisis de estos elementos llevado a cabo en Bélgica (Nguyen *et al.*, 2009). Bernal *et al.* (2010), por su parte, han registrado 54 sustancias activas en el 42% de unas muestras de polen tomadas en primavera en España, mientras que en las muestras tomadas en otoño se han detectado 14 sustancias activas procedentes del 31% de las muestras. El porcentaje relativo de las muestras con residuos varía de manera significativa de unas regiones a otras.

En cuanto a los análisis aquí presentados, han sido llevados a cabo a partir de 25 muestras de pan de abeja almacenado durante el período de pecoreo de 2012 y a lo largo del invierno hasta 2013, recogidas en varios lugares de siete países europeos, así como de 107 muestras de polen recolectado por las abejas, obtenido gracias a trampas de polen, durante el período de pecoreo de 2013 y procedentes de diversos lugares de 12 países europeos. El objetivo del estudio consistía en identificar y cuantificar los plaguicidas presentes en estos productos vinculados a las abejas.

Métodos y materiales

El estudio ha sido realizado en dos fases. La primera fase ha incluido la recolección de muestras y análisis de pan de abeja procedente de varias colmenas localizadas en diversos países europeos. A este trabajo inicial le ha seguido el análisis de muestras de polen recolectado por abejas (con algo más de pan de abeja adicional), procedentes de varios lugares de Europa. El análisis de ambas matrices ha sido realizado en un laboratorio independiente de Alemania, acudiendo a un protocolo analítico común (QuEChERS), diseñado para la investigación de productos alimenticios y adaptado adecuadamente (Lesuer *et al.*, 2008). Los plaguicidas neonicotinoides clotianidina, tiametoxam e imidacloprid se han analizado utilizando un análisis específico LCMS/MS, con un límite de detección (LOD, por sus siglas en inglés) de 0,3 µg/kg y un límite de cuantificación (LOQ, por sus siglas en inglés) de 1 µg/kg. Todos los demás plaguicidas han sido analizados utilizando un método multiresiduo GC-MS/MS y LC-MS/MS que cubre 300 sustancias diferentes, con un límite de detección (LOD) de 3 µg/kg y un LOQ de 10 µg/kg, en la mayor

parte de los casos. Las soluciones patrón han sido preparadas en laboratorio partiendo de compuestos individuales (Dr. Ehrenstorfer, Sigma-Aldrich).

A grandes rasgos, el método seguido ha consistido en añadir 10ml de agua desionizada (Barnstead, Nanopure Diamond™, Thermo Scientific) a aproximadamente 5g de polen recolectado por abejas o a pan de abeja directamente tomado de la colmena y pesado con exactitud en un tubo de centrifugación de teflón. También se han mezclado 10ml de acetonitrilo (HPLC Gradiente Grade, VWR) con una solución de patrón interno (isoproturón-d6 para análisis LC-MS/MS; antraceno-d10 para análisis GC-MS). A esta mezcla se han añadido 4g de sulfato de magnesio anhidro, 1g de cloruro de sodio, 1g de citrato de trisodio dihidratado y 0,5g de citrato de hidrógeno disódico sesquihidratado, todo ello mezclado con un mezclador de vórtice durante 10 minutos. El resultado ha sido después centrifugado durante 13 minutos a 10.000 rpm en una centrifugadora refrigerada Rotina 380 R; luego se han transferido 7ml del sobrenadante a un tubo que contenía 1g de sulfato de magnesio anhidro, donde han sido brevemente agitados a mano y de nuevo centrifugados. Se ha retirado entonces 1ml del sobrenadante para aplicarle el análisis LC-MS/MS.

Se han añadido después 300g de PSA como sorbente a los restantes 6ml de la solución, agitándose esta mezcla a mano durante un minuto, tras lo cual ha sido centrifugada durante 13 minutos a 10.000 rpm en la centrifugadora refrigerada Rotina 380 R. Se han transferido entonces dos alícuotas de 0,2ml del sobrenadante a dos viales, añadiendo 10µl por ml de extracto de una solución con 5% de ácido fórmico en acetonitrilo, a modo de protector de analito / solución de estabilización. Estas alícuotas han sido usadas para los análisis con GC-MS/MS y con GC-MSD.

Para los análisis, se han utilizado los siguientes instrumentos analíticos:

Sistema LC-MS/MS

Cargador de muestras: Finnigan Surveyor Autosampler Plus (Fa. Thermo-Fisher)

Bomba LC: Finnigan Surveyor MS Pump Plus (Fa. Thermo-Fisher)

Espectrómetro de masas: TSQ Quantum Ultra (Fa. Thermo-Fisher)

Software: Thermo Xcalibur 2.1/TraceFinder 2.1

Para analizar las muestras, se ha utilizado un cargador de muestras Finnigan Surveyor y un sistema de cromatografía de líquidos conectado a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (TSQ Quantum Ultra). Se han inyectado las muestras en una columna de fase inversa Thermo Hypersil Gold de 150 x 2,1mm 5µm (ThermoFisher, San José, California). Se han inyectado 20µl de muestras y las separaciones se han realizado a 30°C. Se han eluido los analitos de la columna con un flujo de gradiente (0,2mL/min) de 0,01% de ácido acético glacial más 5 mmol de acetato de amonio en agua (fase móvil A) y de 0,01% de ácido acético glacial más 5mmol de acetato de amonio en metanol (fase móvil B). Se ha mantenido el gradiente al 90% de la fase móvil A durante un minuto antes de disminuirlo al 20% durante 9 minutos. Estas condiciones de elución han sido mantenidas durante 10

minutos, tras lo cual se ha devuelto el gradiente a las condiciones iniciales y reequilibrado durante 4 minutos en preparación de la siguiente inyección de una muestra.

En cuanto al análisis específico de neonicotinoides, se ha utilizado el mismo equipo, aunque realizando exploraciones específicas. Las separaciones han sido llevadas a cabo con una mayor tasa de flujo de 0,3 mL/min. El programa de elución en gradiente se ha iniciado con el 80% A, siendo cambiado linealmente hasta el 20% A entre los minutos 1 y 6, tras lo cual se ha mantenido así durante 4 minutos.

Los datos espectrométricos de masas se han recolectado en modo ESI (ionización por electrospray) positiva en caliente. La temperatura capilar ha sido de 300°C, con una tensión de pulverización de 4,0kV. La presión del gas de protección ha sido de 25arb. y del gas auxiliar de 12arb.

GC-MS/MS (QQQ)

Cargador de muestras: MPS2 incl. ALEX (Gerstel)
Cromatógrafo de gases: 7890 (Agilent Technologies)
Espectrómetro de masas: 7000 Triple Cuadrupolo (Agilent Technologies)
Software: MassHunter Workstation, Versión B.04.00; MassHunter Acquisition, Versión B.05.00.412; Gerstel Maestro 1.3.10.3.

El análisis GC-MS/MS se ha realizado con un cromatógrafo de gases GC 7890 (Agilent), conectado a un espectrómetro de masas Triple Cuadrupolo 7000. Las separaciones se han llevado a cabo con una columna capilar Agilent HP-5ms de 30 m x 0,25 mm 0,25 µm. La temperatura de entrada PTV inicial ha sido de 80°C, siendo después elevada de manera controlada por el programa hasta 250°C. Las inyecciones se han llevado a cabo en modo de ventilación de solventes. El volumen de inyección ha sido de 4µL. Las condiciones iniciales de presión del gas portador helio han sido de 27,5 psi. La temperatura inicial del horno ha partido de 70 °C durante 2 minutos, al cabo de los cuales este ha sido calentado a un ritmo de 25°C/min hasta alcanza r los 150°C, bajando entonces el ritmo a 3°C/min hasta llegar a los 200°C, tras lo cual se ha incrementado a 8°C/min para alcanzar la temperatura final de 280°C, donde se ha mantenido durante 10 minutos.

GC-MS (MSD)

Cargador de muestras: MPS2 incl. ALEX (Gerstel)
Cromatógrafo de gases: GC 6890N (Agilent Technologies)
Espectrómetro de masas: MS 5975 XL inert (Agilent Technologies)
Software: Enhanced Data Analysis/MSD Chemstation D.02.00.275
Gerstel Maestro 1.3.8.14.

El análisis CG-MSD se ha llevado a cabo con un cromatógrafo de gases GC 6890N (Agilent) conectado a un detector selectivo de masas MS 5975 XL. Las separaciones se han realizado con una columna capilar Varian VF-5ms de 30 m x 0,25 mm 0,25 µm. La

temperatura inicial del puerto de inyección ha sido de 70°C, siendo después elevada de manera controlada por el programa hasta 250°C. El volumen de inyección ha sido de 1 µL. Las condiciones iniciales de ritmo de flujo del gas portador helio han sido de 1,0 mL/min. La temperatura inicial del horno ha partido de 120°C durante 1 minuto, tras lo cual se ha calentado a un ritmo de 4°C/min hasta una temperatura final de 280°C, donde se ha mantenido durante 4 minutos.

Resultados

En las muestras de polen capturado se han identificado residuos de por lo menos uno de 53 plaguicidas (incluyendo 22 insecticidas/acaricidas, 29 fungicidas y 2 herbicidas) y en las muestras de polen de panal (pan de abeja) se han identificado residuos de por lo menos uno de 17 plaguicidas (incluyendo 9 insecticidas/acaricidas y 8 fungicidas).

Los residuos más habitualmente detectados en el polen capturado proceden del insecticida/acaricida organofosforado clorpirifos etil. Este ha sido encontrado en 18 de las 107 muestras, incluyendo en 6 de las 7 muestras tomadas en Polonia (10-119 µg/kg) y en 5 de las 14 tomadas en España (11-705 µg/kg). En una muestra procedente de Italia, se han detectado residuos de metil clorpirifos. El clorpirifos es uno de los siete plaguicidas que dañan a las abejas, que se ha identificado como candidato prioritario a ser rápidamente retirado Tirado *et al.* (2013). Se ha detectado boscalida, un fungicida carboxamida, en 14 muestras, incluyendo en 5 de las 15 muestras tomadas en Alemania (12-144 µg/kg). También se ha hallado el insecticida neonicotinoide tiacloprid en 14 muestras, incluyendo 8 de las 15 tomadas en Alemania, en concentraciones de 10-250 µg/kg. El dimetomorf (un fungicida de la clase de las morfolinas, derivado del ácido cinámico) ha sido detectado en 11 muestras (en 11 de las 12 muestras procedentes de Italia, en concentraciones de 204-1273 µg/kg).

Los plaguicidas más frecuentemente hallados en las muestras de polen de panal (pan de abeja) han sido el insecticida/acaricida Amitraz (detectado en 6 de las 25 muestras, incluyendo en 4 de las 5 muestras tomadas en Suiza, en concentraciones de 31-177 µg/kg), seguido del tau-fluvalinato, un insecticida/acaricida piretroide sintético detectado en 4 muestras, incluyendo las 3 procedentes de España, y del cumafós, un insecticida/acaricida fosforotionato hallado en 2 muestras, ambas tomadas en España (204-1273 µg/kg).

Los fungicidas constituyen otros ingredientes activos encontrados con relativa frecuencia en el polen de estas muestras. Fenhexamida, trifloxistrobin y folpet han sido detectados cada uno en 9 muestras; espiroxamina y tiofanato-metil en 8 muestras; lprovalicarb y ciprodinil en 7 muestras, ya sea aislados o combinados.

De los tres neonicotinoides actualmente sujetos a restricciones de uso en Europa, el imidacloprid ha sido detectado en 6 de las 107 muestras de polen (5,6%): en 4 muestras tomadas en España (7,6-148,5 µg/kg) y 2 procedentes de Italia (1,7-11,0 µg/kg). La clotianidina ha sido encontrada en 2 muestras (una tomada en Austria, con una concentración de 4,7 µg/kg, y la otra procedente de Suecia, 1,8 µg/kg) (1,8%). No se han detectado, en cambio, residuos de tiametoxam en ninguna de las muestras de polen. En

cuanto a las muestras analizadas de pan de abeja, ninguna de ellas contiene niveles detectables de ninguno de estos neonicotinoides prohibidos.

Con mucha diferencia, la mayor gama de sustancias activas ha sido hallada en muestras de polen procedentes de Italia, especialmente en las recogidas en las cercanías de viñedos. Por ejemplo, se han detectado residuos de 17 plaguicidas diferentes (incluyendo 14 fungicidas y 3 insecticidas/acaricidas) en el polen recolectado en los alrededores de viñedos cercanos a Cisterna d'Asti, en el valle San Matteo, el 16 de junio de 2013; por otro lado, se han identificado 12 tipos de residuos (10 fungicidas y 2 insecticidas/acaricidas) en una muestra tomada en la región de Montebelluna, el 27 de junio de 2013.

En el caso del pan de abeja, la muestra con mayor presencia de residuos procede de un panal almacenado en la región andaluza de Gilena, en España, en marzo de 2013, si bien en este caso los residuos de insecticidas/acaricidas (6 ingredientes activos) son mucho más numerosos que los de fungicidas (1 ingrediente activo).

Además, en una muestra de polen capturado y en una muestra de pan de abeja, se han encontrado residuos del muy utilizado repelente químico de insectos DEET (dietiltoluamida). Esto bien podría deberse a su uso por parte de un apicultor como repelente personal para insectos, por lo que no ha sido incluido en el resumen estadístico de los datos analizados. De manera similar, en tres muestras de polen se ha hallado butóxido de piperonilo, una sustancia con efectos sinérgicos que se utiliza para incrementar la toxicidad de ciertos insecticidas, principalmente carbamatos, piretroides y rotenonas, pero tampoco ha sido incluido en las estadísticas descriptivas. El pentacloroanisol, un producto derivado de la degradación de dos fungicidas: pentaclorofenol y pentacloronitrobenzeno, ha sido identificado en una de las muestras, pero también ha sido excluido del resumen estadístico.

Los datos quedan resumidos en los siguientes Cuadros 1-4, mientras que los datos completos son reproducidos en el Anexo 1 [se pueden consultar en el informe completo en inglés].

Cuadro 1: Plaguicidas clave encontrados en 6 ó más muestras de polen capturado, junto a los rangos de concentración registrados en cada país donde se han obtenido. En la columna 2 se expone el periodo de recolección de muestras durante el cual estas fueron tomadas en cada país

País	Periodo de recolección de muestras en 2013	Cantidad de muestras	Plaguicidas clave (neonicotinoides prohibidos y otros plaguicidas frecuentemente detectados*) (cantidad de muestras en las que se ha detectado [rango de concentración en µg/kg])
Austria	mayo	3	Clotianidina (1) [4,7], Tiacloprid (1) [24], Tebuconazol (1) [30]
Francia	abr-sep	12	Boscalida (2) [48-269], Folpet (1) [11], Tebuconazol (1) [159], Tiofanato-metil (1) [24]
Alemania	may-jun	15	Tiacloprid (8) [10-250], Amitraz (incl. metabolitos) (1) [11], Azoxistrobin (2) [30-69], Boscalida (5) [12-144], Ciprodinil (2) [454-590], Fenhexamida (1)

			[2550], Espiroxamina (1) [10], Tiofanato-metil (1) [17], Trifloxistrobin (2) [26-1104]
Grecia	jun-jul	10	Amitraz (2) [20-33], Clorpirifos-etil (1) [360]
Hungría	may-jul	7	Tiacloprid (3) [22-33], Amitraz (incl. metabolitas) (4) [13-46], Boscalida (2) [18-57], Clorpirifos-etil (1) [123], Fenhexamida (1) [13], Folpet (1) [97]
Italia	may-jul	12	Imidacloprid (2) [1,7-11], Clorpirifos-etil (3) [10-562], Boscalida (3) [13-43], Ciprodinil (2) [22-146], Dimetomorf (11) [20-2045], Fenhexamida (6) [11-43], Folpet (6) [10-1316], Iprovalicarb (7) [11-320], Metalaxil/Metalaxil-M (6) [12-454], Espiroxamina (7) [12-83], Tebuconazol (3) [22-296], Tiofanato-metil (1) [29], Trifloxistrobin (7) [22-220]
Luxemburgo	may-jun	5	No se han detectado plaguicidas.
Polonia	may-jun	7	Tiacloprid (1) [147], Clorpirifos-etil (6) [10-119], Azoxistrobin (3) [17-22], Tebuconazol (1) [16], Tiofanato-metil (2) [10-68]
Rumanía	jun-ago	10	Azoxistrobin (1) [18], Fenhexamida (1) [13], Folpet (1) [51], Tiofanato-metil (2) [27-93]
España	jul-ago	14	Imidacloprid (4) [7,6-148,5], Clorpirifos-etil (5) [11-705]
Suecia	jul	2	Clotianidina (1) [1,8], Boscalida (2) [147-1081]
Suiza	abr-sep	10	Tiacloprid (1) [31], Ciprodinil (2) [91-10.169], Tiofanato-metil (1) [21]

*residuos hallados en 6 ó más muestras del conjunto total de 107 muestras de polen

Cuadro 2: Clases y tipos de todos los plaguicidas y componentes relacionados detectados en el polen capturado del pecoreo de las abejas, ordenado por frecuencia de detección e incluyendo la cantidad y porcentaje de muestras en las que han sido hallados, junto con los países de origen. En la quinta columna se incluye también, entre corchetes, la concentración general o el rango de concentración registrados.

Plaguicida	Clase/Tipo	Frecuencia de detección		Países en los que ha sido detectado (cantidad de muestras) [rango de concentración en µg/kg]
		Cantidad de muestras	Porcentaje de muestras	
Clorpirifos (-etil)	FO	18	16,8	Francia (1/12) [10], Grecia (1/10) [360], Hungría (1/7) [123], Italia (3/12) [10-562], Polonia (6/7) [10-119], España (5/14) [11-705], Suiza (1/10) [11]
Boscalida	S FUNG	14	13,1	Francia (2/12) [48-269], Alemania (5/15) [12-144], Hungría (2/7) [18-57], Italia (3/12) [13-43], Suecia (2/2) [147-1081]
Tiacloprid	S NEO	14	13,1	Austria (1/3) [24], Alemania (8/15) [18-250], Hungría (3/7) [22-33], Polonia (1/7) [147], Suiza (1/10) [31]
Dimetomorf	S FUNG	11	10,3	Italia (11/12) [20-2045]
Fenhexamida	FUNG IBE	9	8,4	Alemania (1/15) [2550], Hungría (1/7) [13], Italia (6/12) [11-43], Rumanía (1/10) [13]

Folpet	FUNG	9	8,4	Francia (1/12) [11], Hungría (1/7) [97], Italia (6/12) [10-1316], Rumanía (1/10) [51]
Trifloxistrobin	PS FUNG	9	8,4	Alemania (2/15) [26-1104], Italia (7/12) [22-220]
Espiroxamina	FUNG IBE	8	7,5	Alemania (1/14) [10], Italia (7/12) [12-83]
Tiofanato-metil	S FUNG	8	7,5	Francia (1/12) [24], Alemania (1/15) [17], Italia (1/12) [29], Polonia (2/7) [10-68], Rumanía (2/10) [27-93], Suiza (1/10) [21]
Amitraz (incl. metabolitos)	FORM	7	6,5	Alemania (1/15) [11], Grecia (2/10) [20-33], Hungría (4/7) [13-46]
Ciprodinil	S FUNG	7	6,5	Francia (1/12) [76], Alemania (2/15) [454-590], Italia (2/12) [22-146], Suiza (2/10) [91-10169]
Iprovalicarb	S FUNG	7	6,5	Italia (7/12) [11-302]
tau-Fluvalinato	PIR	7	6,5	Grecia (1/10) [25], Polonia (1/7) [12], Rumanía (4/10) [12-339], Suiza (1/10) [15]
Azoxistrobin	S FUNG	6	5,6	Alemania (2/15) [30-69], Polonia (3/7) [17-22], Rumanía (1/10) [18]
Imidacloprid	S NEO	6	5,6	Italia (2/12) [1,7-11], España (4/14) [7,6-148,5]
Metalaxil/Metalaxil-M	S FUNG	6	5,6	Italia (6/12) [12-454]
Tebuconazol	FUNG IBE	6	5,6	Austria (1/3) [30], Francia (1/12) [159], Italia (3/12) [22-296], Polonia (1/7) [16]
Acetamiprid	S NEO	5	4,7	Italia (1/12) [16], Polonia (3/7) [17-45], España (1/14) [52]
Carbendazima	S FUNG	5	4,7	Alemania (1/15) [10], Polonia (3/7) [42-76], Rumanía (1/10) [99]
Fludioxonil	FUNG	5	4,7	Francia (1/12) [40], Alemania (2/15) [119-1130], Grecia (1/10) [27]
Bupirinato	FUNG	4	3,7	Italia (3/12) [10-70], España (1/14) [14]
Difenoconazol	FUNG IBE	3	2,8	Italia (2/12) [55-70], Suiza (1/10) [11]
Dimoxistrobina	FUNG	3	2,8	Alemania (1/15) [30], Hungría (2/7) [33-106]
Miclobutanil	FUNG IBE	3	2,8	Italia (1/12) [16], España (2/14) [27-41]
Fosmet	FO	3	2,8	Italia (2/12) [28-298], España (1/14) [44]
Buxótido de piperonilo (efecto sinérgico)	SIN	3	2,8	Grecia (1/10) [21], Rumanía (1/10) [103], España (1/14) [12]
Pirimicarb	CAR	3	2,8	Francia (2/12) [20-21], Suiza (1/10) [16]
Quinoxifeno	FUNG	3	2,8	Italia (3/12) [19-25]
Terbutilazina	HERB	3	2,8	Alemania (1/15) [13], Italia (1/12) [22], Polonia (1/7) [12]
Buprofezina	INS	2	1,9	Italia (2/12) [20-25]
Clotianidina	S NEO	2	1,9	Austria (1/3) [4,7], Suecia (1/2) [1,8]
Cumafós	FO	2	1,9	Grecia (1/10) [35], España (1/14) [23]
Flusilazol	OS	2	1,9	Polonia (1/7) [34], Suiza (1/10) [973]
Cresoxim metilo	S FUNG	2	1,9	Italia (1/12) [24], Suecia (1/2) [28]
Penconazol	FUNG IBE	2	1,9	Italia (2/12) [13-102]
Pendimetalina	HERB	2	1,9	Austria (1/3) [10], Alemania (1/15) [24]
Pirimetanil	FUNG	2	1,9	Italia (1/12) [16], Suiza (1/10) [169]

Clorpirifos (-metil)	FO	1	0,9	Italia (1/12) [20]
DDE (Sum)	OC	1	0,9	España (1/14) [15]
DEET	REP	1	0,9	Suiza (1/10) [28]
Dimetoato	FO	1	0,9	España (1/14) [26]
Dodina	FUNG	1	0,9	Francia (1/12) [39]
Epoxiconazol	FUNG IBE	1	0,9	Rumanía (1/10) [66]
Famoxadona	FUNG	1	0,9	Grecia (1/10) [30]
Fenpropimorf	FUNG	1	0,9	Alemania (1/15) [42]
Flufenoxurón	INS	1	0,9	Italia (1/12) [10]
Isómeros de HCH (excepto gamma-HCH)	OC	1	0,9	Rumanía (1/10) [13]
Indoxacarb	INS	1	0,9	España (1/14) [25]
Lindano (gamma-HCH)	OC	1	0,9	Rumanía (1/10) [16]
Metiocarb	CAR	1	0,9	España (1/12) [21]
Permetrina (suma de todos los Isómeros)	PIR	1	0,9	Rumanía (1/10) [35]
Fosalón	FO	1	0,9	Suiza (1/10) [12]
Piraclostrobina	FUNG	1	0,9	Alemania (1/15) [32]
Espinosad	INS	1	0,9	España (1/12) [13]
Tolilfluánida	FUNG	1	0,9	Suiza (1/10) [44]

Clase: CAR = carbamato; FORM = formamidina; FUNG = fungicida; HERB = herbicida; INS = insecticidas varios; NEO = neonicotinoide; OC = organoclorado; FO = organofosforado ; PS = parcialmente sistémico; PIR = piretroide; REP = repelente de insectos; S = sistémico; IBE = inhibidor de la biosíntesis de esteroides; SIN = sinergista

Cuadro 3: Plaguicidas encontrados en muestras de polen tomadas de los panales o pan de abeja, con la cantidad de muestras en las que han sido detectados y los rangos de concentración registrados, por cada país de procedencia. En la segunda columna se indica el periodo durante el cual se han recogido las muestras. La mayoría de estas muestras proceden de panes de abeja de la temporada de pecoreo de 2012 almacenados durante el invierno 2012-2013, salvo en el caso de algunas muestras procedentes de Austria y Alemania, que han sido obtenidas durante la temporada de pecoreo de 2013.

País	Periodo de recolección de muestras en 2013	Cantidad de muestras	Plaguicidas (cantidad de muestras en las que se ha detectado) [rango de concentración en µg/kg] (number of samples in which found) [concentration range in µg/kg]
Austria	may y sep	5	tau-Fluvalinato (1) [76], DEET (1) [17]
Francia	mar	3	Amitraz (1) [503], Dimetomorf (1) [37], Pentacloroanisol* (1) [10], Folpet (1) [92], tau-Fluvalinato (1) [93]
Alemania	mar y jun	3	Fludioxonil (1) [17], Ciprodinil (1) [18], Fenhexamida (1) [13]
Hungría	abr	3	tau-Fluvalinato (1) [98], Cumafós (1) [148], Carbendazima (1) [14], Tebuconazol (1) [27]
Polonia	mar-abr	3	Fludioxonil (1) [129], Ciprodinil (1) [64], Amitraz

			(1) [137], Boscalida (1) [12], Clorpirifos (-etil) (1) [13]
España	mar-abr	3	Clorpirifos (-etil) (1) [99], tau-Fluvalinato (3) [11-13], Cumafós (2) [204-12073], Carbendazima (1) [153], Pirimicarb (1) [16], Buprofezina (1) [10], Propargita (1) [26], Acrinatrín (1) [22]
Suiza	abr	5	Amitraz (4) [31-177]

Cuadro 4: Clases y tipos de todos los plaguicidas y componentes relacionados detectados en el polen de panal o pan de abeja, ordenados por frecuencia de detección e incluyendo la cantidad y porcentaje de muestras en las que han sido encontrados, junto con los países de origen. En la quinta columna se incluye también, entre corchetes, la concentración general o el rango de concentración registrados.

Plaguicida	Clase/Tipo	Frecuencia de detección		Países en los que ha sido detectado (cantidad de muestras) [rango de concentración en µg/kg]
		Cantidad de muestras	Porcentaje de muestras	
Amitraz	FORM	6	24	Francia (1) [503], Polonia (1) [137], Suiza (4) [31-177]
tau-Fluvalinato	PIR	6	24	Austria (1) [76], Francia (1) [93], Hungría (1) [98], España (3) [11-13]
Cumafós	FO	3	12	Hungría (1) [148], España (2) [204-12073]
Carbendazima	S FUNG	2	8	Hungría (1) [14], España (1) [153]
Clorpirifos (-etil)	FO	2	8	Polonia (1) [13], España (1) [99]
Ciprodinil	S FUNG	2	8	Alemania (1) [18], Polonia (1) [64]
Fludioxonil	FUNG	2	8	Alemania (1) [17], Polonia (1) [129]
Acrinatrín	PIR	1	4	España (1) [22]
Boscalid	S FUNG	1	4	Polonia (1) [12]
Buprofezina	INS	1	4	España (1) [10]
DEET	REP	1	4	Austria (1) [17]
Dimetomorf	S FUNG	1	4	Francia (1) [37]
Fenhexamida	FUNG	1	4	Alemania (1) [13]
Folpet	FUNG	1	4	Francia (1) [92]
Pentacloroanisol	DEG*	1	4	Francia (1) [10]
Pirimicarb	CAR	1	4	España (1) [16]
Propargita	MITI	1	4	España (1) [26]
Tebuconazol	FUNG	1	4	Hungría (1) [27]

*producto de la degradación del pentaclorofenol o del pentacloronitrobenceno

Clases: CAR = carbamato; DEG = probable producto derivado de la degradación de otros ingredientes activos; FORM = formamidina; FUNG = fungicida; INS = insecticidas varios;

MITI = miticida (acaricida); FO = organofosforado; PIR = piretroide; REP = repelente de insectos; S = sistémico

Discusión

La diversidad de sustancias químicas encontradas, especialmente en las muestras de polen capturado, sugiere que las abejas pueden estar expuestas a complejas mezclas de productos agroquímicos mientras pecorean y que dichos productos son llevados a la colmena y algunos de ellos almacenados en sus reservas alimenticias (pan de abeja). Es probable que esta exposición a productos químicos específicos pueda variar a lo largo de la temporada de pecoreo, a medida que los cultivos maduran y se les aplican sucesivos tratamientos químicos. El programa y calendario de recolección de muestras aplicado en este estudio tan sólo aporta “una instantánea” de los residuos presentes en 12 países europeos dentro de un intervalo de tiempo ciertamente limitado. Por otro lado, estos resultados tampoco pueden considerarse representativos ni utilizarse para comparaciones directas sobre la situación general de contaminación de cada país específico, puesto que las muestras han sido tomadas en una amplia variedad de lugares con perfiles de cultivo y en momentos diferentes de los ciclos agrícolas. No obstante, este estudio ha llevado a cabo una recolección de muestras simultánea en una cantidad de países sin precedentes en estudios anteriores, cubriendo así un área geográfica muy amplia.

Incluso con todas estas limitaciones en mente, los datos obtenidos sobre el polen capturado indican un uso muy extendido del clorpirifos, un insecticida organofosforado que daña a las abejas y que constituye uno de los productos candidatos a ser retirados de forma prioritaria. También registran un amplio uso de neonicotinoides, así como del fungicida boscalid. Los resultados señalan igualmente usos más localizados (o tal vez, localmente más intensivos) de ciertos productos químicos, como el dimetomorf en Italia. La gran variedad generalizada de fungicidas detectados en las muestras procedentes de Italia también resulta sorprendente, sugiriendo un uso local intensivo de estos ingredientes activos en la viticultura. Aún más intrigante resulta una muestra procedente de España que sugiere un uso histórico del DDT, mientras otra muestra sugiere el uso de HCH-técnico, que es una mezcla de isómeros de HCH.

En cualquier caso, todo parece indicar que el polen recolectado y capturado mediante trampas de polen resulta una base extremadamente útil para analizar los residuos de los plaguicidas a los que se ven expuestas las abejas en el curso de su pecoreo y que se llevan consigo a la colmena. Pero para lograr una buena comprensión de las dinámicas seguidas por los plaguicidas a lo largo de todo el periodo vegetativo, es necesario desarrollar una campaña de recolección de muestras mucho más amplia y a lo largo de toda la temporada de pecoreo.

Algunos de los plaguicidas detectados probablemente hayan llegado a las colmenas principalmente como resultado de su uso por parte de los propios apicultores para el control de ciertos parásitos (*Varroa*). El amitraz, tau-fluvalinato y cumafós pertenecen a esta categoría y esto explicaría su relativamente frecuente presencia en las muestras de polen de panal (pan de abeja). Aunque el amitraz (incluyendo sus metabolitos) también ha sido

detectado en 7 muestras de polen capturado y, dado su posible uso en una amplia variedad de cultivos (además de su aplicación como ectoparasiticida para las abejas), su origen puede hallarse pues en parte en los cultivos. Se han detectado también residuos de tau-fluvalinato en 7 muestras de polen capturado, pero es un producto que también cuenta con ciertas aplicaciones agrícolas, por lo que las abejas también pueden haberse visto expuestas a polen contaminado con esta sustancia durante sus actividades de pecoreo. El cumafós ha sido igualmente detectado en 2 muestras de polen capturado; esta sustancia parece que se aplica exclusivamente como ectoparasiticida para una amplia variedad de animales domésticos, así como para las abejas.

La relativamente alta frecuencia de detección del amitraz, del tau-fluvalinato y del cumafós en las muestras de polen de panal/pan de abeja de este estudio (en el 24%, 24% y el 12% de las muestras, respectivamente) parece indicar su aplicación bastante habitual en el interior de las colmenas por los propios apicultores. Como se ha comentado anteriormente, estas muestras proceden de polen recolectado por abejas durante el periodo vegetativo de 2012 y conservado a lo largo del invierno. Es por lo tanto posible que la cantidad relativamente baja de plaguicidas detectados en estas muestras, en comparación con las muestras de polen fresco recolectado al comienzo de un nuevo periodo vegetativo, refleje un menor uso de productos agroquímicos en los campos a finales del mismo. Por otro lado, también es posible que el almacenamiento de polen en panal a lo largo del invierno, junto con los procesos microbiológicos acontecidos en las celdas (fermentación de ácido láctico) (Campos *et al.*, 2010), hayan provocado la degradación de algunos plaguicidas originalmente presentes, reduciéndolos a niveles inferiores a los límites de detección.

En este estudio, los tres plaguicidas neonicotinoides cuyo uso ha sido restringido se han detectado en unas pocas muestras. El imidaproclid se ha hallado en el 5,6% de las muestras de polen, mientras que la clotianidina sólo estaba presente en el 1,8% (en 2 de las 107 muestras). Mullin *et al.* (2010), por su parte, registraron imidacloprid en el 3,5% de sus 350 muestras recolectadas en Estados Unidos y tiametoxam en sólo 0,3% de las mismas. No obstante, en el conjunto de datos aportados por Stoner & Eitzer (2013), también tomados en Estados Unidos, el imidacloprid (en todas sus formas) fue detectado en el 12,4% de las 313 muestras analizadas y el tiametoxam en el 1% de las mismas. Los datos presentados por Genersch *et al.* (2010) para Alemania muestran que el imidacloprid estaba presente en el 0,47% de las muestras de polen recolectadas en 2007, pero totalmente ausente en las muestras recolectadas en 2005/2006. El imidaproclid fue hallado en el 8,4% de las muestras de miel tomadas por Nguyen *et al.* (2009), pero siempre en niveles por debajo del límite de cuantificación del método aplicado. En cambio, una investigación de 3 años de duración realizada en Francia por Chauzat *et al.* (2009) hallaron imidacloprid (incluyendo ácido 6 cloronicotínico) en hasta un 57,3% de las muestras recolectadas. Estas altísimas tasas de detección registradas por este estudio no han sido sin embargo ratificadas por otro estudio llevado a cabo por Lambert *et al.* (2013) en el occidente de Francia, donde sólo el 0,8% de las muestras de polen dieron positivo en la prueba de imidacloprid. Bernal *et al.* (2010), por su parte, no registraron la presencia de ninguno de los neonicotinoides restringidos en muestras de polen almacenado de otoño y primavera procedentes de España.

Así que, las tasas relativamente bajas, en el presente estudio, de muestras contaminadas con alguno de los tres neonicotinoides de uso restringido en Europa parecen hallarse pues en amplia consonancia con los datos aportados por la literatura existente al respecto (véase también Blacquiere *et al.*, 2012). Esto probablemente dependa en gran medida de la proporción de cultivos desarrollados en las regiones investigadas que usen tratamientos de neonicotinoides para las semillas, junto con la proximidad de las colmenas estudiadas a dichos cultivos. Para poder evaluar la efectividad de las actuales restricciones a los neonicotinoides, se requeriría llevar a cabo un seguimiento y control más sistemáticos. Sólo así sería posible evaluar cualquier cambio en la diseminación de estas sustancias en el entorno y en la exposición de las abejas a las mismas. A día de hoy, no parece que se esté desarrollando ningún programa de este tipo.

Los datos aquí mostrados, en consonancia con muchos de los estudios citados en este informe, aportan más pruebas de que las abejas están siendo expuestas a un espectro potencialmente amplio de plaguicidas, que pueden ser llevados a las colmenas por las propias abejas obreras pecoreadoras bajo la forma de contaminantes presentes en el polen. Las evaluaciones convencionales de toxicidad se basan en la premisa de que la toxicidad de la mayoría de las mezclas de sustancias químicas responde a un simple modelo de adición (Concentración-Adición o CA, por sus siglas en inglés) o a un modelo de Actuación Independiente (IA, por sus siglas en inglés), siendo cualquiera de ambos modelos aplicables a numerosos casos y generando ambos resultados similares (si bien no idénticos) (véanse Cedergreen *et al.*, 2012; Hadrup *et al.*, 2013; Spurgeon *et al.*, 2010). No obstante, se admite que ninguno de estos dos modelos es capaz de predecir adecuadamente la toxicidad de ciertas mezclas, cuyos efectos no son tanto aditivos como sinérgicos, lo que ha conducido, por ejemplo, al desarrollo del modelo de “concentración-adición generalizada” (*Generalised Addition Concentration* o GCA), derivado del modelo CA, que ha demostrado tener mayor éxito a la hora de predecir el comportamiento de algunos grupos de sustancias químicas que interactúan de manera sinérgica.

Cada vez hay más pruebas de que los componentes de estas mezclas químicas halladas en este y en otros estudios pueden ser capaces de interactuar precisamente de manera sinérgica. En especial, algunos fungicidas que solían ser considerados relativamente inofensivos para las abejas han demostrado convertirse en dañinos en presencia de otros plaguicidas. Por ejemplo, Norgaard & Cedergreen (2010) han registrado dichas interacciones entre fungicidas e insecticidas en experimentos con organismos propios de las pruebas de toxicología acuática. Johnson *et al.* (2013) han investigado las interacciones entre los productos químicos aplicados por los apicultores a las colmenas (acaricidas y antimicrobianos) con algunos agroquímicos a los que las abejas pueden verse expuestas cuando pecorean y cuando consumen el polen y néctar recolectados. Han hallado que algunos acaricidas de uso habitual interactúan de diversas formas con otras sustancias. Se ha constatado que la toxicidad del tau-fluvalinato, en particular, se incrementa cuando se combina con 15 de los 17 otros componentes analizados; en el caso del amitraz, en cambio, estas interacciones tan sólo han sido registradas en combinación con 1 de los 15 componentes estudiados, mientras otros acaricidas investigados han mostrado una proporción intermedia de este tipo de interacciones.

Cabe señalar que son los fungicidas de la clase SBI (inhibidores de la biosíntesis de esteroides) los que parecen producir mayores efectos sinérgicos; el procloraz, por ejemplo, en un experimento, multiplicó por 2.000 la toxicidad del tau-fluvalinato, reaccionando también sinérgicamente con otros fungicidas SBI. Aunque, de forma imprevista, unas bajas dosis de algunos fungicidas combinadas con el tau-fluvalinato han reaccionado de manera antagonista (provocando un efecto menor que el aditivo). Aunque señalando esta potencial complejidad y espectro de variabilidad de las interacciones, Johnson *et al.* (2013) han planteado que la contaminación del polen con mezclas de residuos de plaguicidas puede alcanzar una toxicidad significativa.

Hay investigaciones anteriores que ya habían apuntado hacia las interacciones sinérgicas. Por ejemplo, Vandame *et al.* (1995) hallaron que la exposición al deltametrin en combinación con los fungicidas procloraz o difenoconazol provocaba hipotermia a las abejas; sin embargo, estos productos aplicados en las mismas dosis pero por separado no tenían efectos termorregulatorios significativos. Iwasa *et al.* (2004) demostraron que los neonicotinoides tiacloprid y acetamiprid resultaban más tóxicos para las abejas cuando su exposición a los mismos se producía en combinación con fungicidas, a pesar de que estos insecticidas no son considerados altamente tóxicos para estos insectos, cuando actúan en solitario. Por ejemplo, la toxicidad del acetamiprid para las abejas melíferas se multiplica por 244 cuando se presenta combinado con triflumizol y por 105 cuando se combina con propiconazol. En cuanto al tiacloprid, su toxicidad para las abejas se incrementa de manera aún más drástica en estas mismas combinaciones, multiplicándose por 1.141 y 559 respectivamente. En 2012, un informe publicado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) establecía lo siguiente:

“Se ha registrado una sinergia significativa entre los fungicidas EBI [SBI] y los insecticidas tanto neonicotinoides como piretroides, si bien en algunos de estos casos de constatación de elevados niveles de sinergia, las dosis de fungicidas aplicadas excedían ampliamente a las identificadas en la parte expositiva de este informe. [...] Se ha observado una mayor sinergia en pruebas de laboratorio entre los fungicidas EBI, en dosis de aplicación de campo, y piretroides utilizados como varroacidas (flumetrina y fluvalinato) y entre cumafós y varroacidas de fluvalinato.” (véase Thompson, 2012).

Gill *et al.* (2012) reprodujeron en laboratorio un escenario de campo altamente realista, sometiendo a abejorros a una exposición a largo plazo (4 semanas) a dos insecticidas comunes, imidacloprid (neonicotinoide) y lambda-cihalotrina (piretroide), en dosis relevantes. Los comportamientos naturales de pecoreo se vieron afectados y se incrementó la mortalidad de los abejorros pecoreadores, desembocando finalmente en una merma de la cría. El efecto combinado de ambos insecticidas resultó mayor que el observado en la exposición a los mismos por separado, conduciendo a los autores a considerar que estos resultados aportaban: “evidencias de que la exposición combinada a plaguicidas incrementa la propensión a que las colonias se vean negativamente afectadas”. Pero aún más recientemente, Zhu *et al.* (2014) han registrado interacciones complejas entre acaricidas e insecticidas, cuando, en función de la concentración, se pasa de la sinergia al antagonismo, en el caso de mezcla binaria de clorotalonil y tau-fluvalinato. Este estudio también ha descubierto que el aditivo plaguicida común N-metil-2-pirrolidona (NMP) resultaba altamente

tóxico para las larvas de abejas melíferas, aunque suele ser considerado un agente inerte cuando se utiliza como componente de fórmulas químicas.

Existen también evidencias de que la exposición a plaguicidas puede incrementar la vulnerabilidad de las abejas a las infecciones con el parásito intestinal *Nosema ceranae*. Alaux *et al.* (2010) han demostrado que los efectos combinados del imidacloprid con infestaciones de *Nosema* debilita significativamente a las abejas melíferas, provocando altas tasas de mortalidad y altos niveles de estrés, conduciendo en última instancia a un debilitamiento de toda la colonia en su conjunto. En otro estudio, unas abejas criadas en panales con altos niveles de residuos de plaguicidas resultaron infectadas a una edad más temprana por el *Nosema ceranae* que otras criadas en panales con niveles bajos de residuos (Wu *et al.*, 2012). Pettis *et al.* (2013) han hallado que dos fungicidas (clorotalonil y piraclostrobina) y dos mitocidas aplicados a las colmenas (fluvalinato y amitraz) incrementan la vulnerabilidad de las abejas melíferas a la infección de este parásito. Otro estudio reciente ha demostrado que la exposición a dosis subletales de los plaguicidas fipronil y tiacloprid provoca una mortalidad mucho mayor en el caso de abejas melíferas previamente infectadas con el *N. ceranae* que en aquellas no infectadas (Vidau *et al.*, 2011).

Di Prisco *et al.* (2013) han demostrado que la clotianidina y el imidacloprid pueden afectar a ciertos aspectos del sistema inmunológico de las abejas, lo que a su vez puede facilitar la reproducción del virus de alas deformadas (DWV, por sus siglas en inglés) y la activación de infecciones virales latentes. El DWV también mantiene una compleja relación con las plagas de *Varroa*.

En resumen, el trabajo registrado en este informe confirma y está en consonancia con los hallazgos de otros estudios que han demostrado que el polen capturado a las abejas y el polen de panal (pan de abeja) están contaminados con una amplia variedad de plaguicidas, acudiendo a la toma de muestras en un abanico geográfico de lugares por toda Europa más amplio que en ningún estudio previo. Otras investigaciones ya han demostrado que algunos de los plaguicidas identificados interactúan sinérgicamente y también actúan aisladamente o en combinación, incrementando la vulnerabilidad de las abejas a las enfermedades y parásitos.

Indudablemente, en el entorno agrícola actual, las abejas y otros polinizadores se están viendo obligados a afrontar numerosas presiones, desde amenazas a sus hábitats y pérdida de biodiversidad, hasta la proliferación de enfermedades y parásitos, reforzada por los cambios en las condiciones climáticas, y tal vez en conjunto con la amenaza de una múltiple exposición a residuos de plaguicidas en el polen, néctar y agua de gutación. Así que toda estrategia de protección de las abejas y de otros insectos, de los que dependen la agricultura y horticultura, y que constituyen un componente vital de los ecosistemas naturales, debe por lo tanto ser capaz de abordar toda una serie de diversos factores de presión.

Aunque ninguna medida resulta suficiente por sí sola, es posible identificar actuaciones políticas y prácticas clave que pueden comenzar a revertir el declive de las abejas y a asegurar el futuro a largo plazo de estas especies:

1. Para aportar una mayor protección a los polinizadores silvestres y manejados, es necesario convertir en permanentes las restricciones al uso de insecticidas sistémicos como imidacloprid, tiametoxam, clotianidina y fipronil en el tratamiento de semillas, tratamiento del suelo y aplicaciones foliares, y ampliando su alcance para incluir otros usos.
2. Más aún, otros insecticidas que se sabe que resultan muy dañinos para las abejas, como los clorpirifos y los piretroides sintéticos cipermetrin y deltametrin, también deberían ser sometidos a un estricto control.
3. El seguimiento y control de los plaguicidas que afectan a los polinizadores debe abordar el espectro más amplio posible de sustancias (y de sus metabolitos) investigables acudiendo a los métodos analíticos más innovadores hasta el más alto nivel de detección posible.
4. Hay que tener plenamente en cuenta el hecho de que los polinizadores se ven habitualmente expuestos a combinaciones de plaguicidas, lo que en particular abre la posibilidad de interacciones sinérgicas, admitiendo que estas pueden resultar difíciles de predecir cuantitativamente acudiendo a muchos de los modelos actuales de toxicidad combinada. Por ello, también hay que desarrollar estrategias cuyo objetivo consista en una sustancial reducción generalizada del uso de plaguicidas de cualquier tipo, como un objetivo cautelar en sí mismo.
5. Es necesario establecer planes de actuación coordinada para salvar a las abejas, que no sólo pretendan una regulación y control más efectivos de los productos agroquímicos, sino que faciliten igualmente un seguimiento de la salud de las abejas y de otros polinizadores. También deben orientarse a mejorar la conservación de los hábitats naturales y seminaturales que rodean a las zonas agrícolas, así como a potenciar la propia biodiversidad dentro de estas mismas zonas.
6. Hay que incrementar drásticamente los fondos destinados a la investigación y desarrollo de prácticas agrícolas ecológicas, con el fin de impulsar un desplazamiento de la confianza en los métodos químicos hacia herramientas basadas en la biodiversidad para controlar las plagas y mejorar la salud de los ecosistemas. Los responsables de la UE en este ámbito deberían asignar más fondos a la investigación de alternativas de agricultura ecológica, bajo los auspicios de los programas de la PAC (subvenciones directas) y de Horizon 2020 (investigación en la UE).